

Classificação de acessos de um banco de germoplasma de sorgo por meio de assinatura espectral no visível de sementes¹

Laís Lopes Pereira², Antonio Antunes Neto², Vitor Rocha Guimarães³,
Alexandre Martins Abdão dos Passos⁴

1 Trabalho financiado pelo CNPq. 2 Estudante do Curso de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de São João del-Rei, Bolsista PIBIC do Convênio CNPq/Embrapa. 3 Estudante do Curso de Engenharia Florestal da Universidade Federal de São João del-Rei, Estagiário da Embrapa. 4 Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo

Introdução

O sorgo é uma das culturas mais cultivadas pela humanidade, sendo considerada uma importante cultura de subsistência em regiões áridas e semiáridas do planeta (Mundia et al., 2019). O sorgo possui uma versatilidade de utilização que tem sido explorada com várias finalidades, desde seu aproveitamento na alimentação animal (Vinutha et al., 2017) e humana (Xiong et al., 2019) até a produção de biocombustíveis (Mathur et al., 2017). No Brasil, a área plantada com sorgo na safra 2019/2020 foi de 808,7 mil hectares com uma produtividade média de 3.254 kg ha⁻¹, o que resultou na produção de 2.631,0 milhões de toneladas do grão (Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, 2020).

Os Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) são uma ferramenta para a conservação dos recursos genéticos. A caracterização e avaliação dos acessos são necessárias para se conhecer o germoplasma conservado e estimar sua diversidade genética entre e dentro de cada acesso, o que permite a elaboração de estratégias para aumentar a variabilidade genética nos programas de melhoramento, além de possibilitar a identificação de duplicatas e indivíduos com características superiores (Costa et al., 2011). A caracterização ocorre pela aplicação de descritores que são desenvolvidos e seguidos de acordo com a espécie (Alercia, 2011). Todavia, os métodos tradicionais de fenotipagem são trabalhosos, realizados de forma manual, demorados, subjetivos e frequentemente destrutivos para plantas (Rahaman et al., 2015).

Alguns autores têm proposto o uso de ferramentas de visão computacional na fenotipagem de plantas visando caracterizar genótipos (Nguyen et al., 2019; Kehel et al., 2020), principalmente por ser uma abordagem de menor custo de recursos (humanos, tempo e financeiros), com menor subjetividade, menor nível de erros e maior acurácia (Li et al., 2014). A busca de ferramentas de baixo custo e alta robustez é ainda uma demanda cativa.

O objetivo do trabalho é realizar a avaliação de diferentes genótipos de sorgo por meio de uma ferramenta computacional utilizando imagens obtidas por meio de uma câmera de celular sem estrutura de alto custo para obtenção dos dados.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Análise de Sementes (LAS) da Embrapa Milho e Sorgo, localizada em Sete Lagoas, MG. Para a pesquisa foram utilizados 20 acessos de sorgo que fazem parte do Banco Ativo de Germoplasma, conservados em câmara fria a 10 °C e 30% de umidade relativa. Foram avaliados os seguintes acessos oriundos de um campo experimental de multiplicação e regeneração de sementes implantado na safra 2019/2020: BAG 140, 166, 197, 292, 567, 1189, 1530, 1712, 1756, 1776, 1806, 1811, 2046, 2244, 2413, 2449, 3626, 3990, 4669 e 7030.

As imagens das sementes foram obtidas por meio de uma câmera de celular marca Samsung modelo Galaxy J5 Pro de 13 MP de resolução (f/1.7, 27mm, 1/3.1", 1.12µm), ISO-64, distancia focal de 4 mm, brilho de 4.19, contraste normal, modo de exposição, saturação e nitidez normal, balanço de branco automático e versão de EXIF 0220. Posteriormente, as imagens foram recortadas para análise de forma padronizada (200 x 200 pixels).

Para análise das imagens pré-processadas foi utilizado o *software* GrainScan (Whan et al., 2014). Os valores de cada banda visível, vermelho (red), verde (green) e azul (blue) de cada objeto identificado pelo *software* (semente) foram exportados e transformados para o modelo bicônico HSL (Hue, Saturation, Lightness, isto é, Matiz, Saturação e Brilho) por apresentar uma relação mais próxima à percepção humana (Caraza-Harter; Endelman, 2019).

A classe de descritores para avaliar a coloração das sementes de sorgo foi utilizada conforme prescrito no Decreto nº 2.366 do Ministério da Agricultura (Brasil, 1997), o qual prevê oito categorias e abrange as cores branca, cinza, creme, amarela, bronze, vermelha, marrom-clara e marrom.

A análise estatística foi realizada mediante o uso do *software* R (Bhering, 2017). Foi realizada a análise de variância, e as médias das variáveis obtidas foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0.05$). A diversidade entre os acessos foi estudada por meio da Análise de Agrupamento, obtendo-se um dendrograma pelo Método da Ligação Média entre Grupos (UPGMA - *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*), a partir das medidas de dissimilaridade entre os acessos com base na distância euclidiana.

Resultados e Discussão

Foram verificados efeitos significativos para os acessos de sorgo em todas as variáveis avaliadas (Figura 1). Esses efeitos demonstram que houve um perfil colorimétrico variável entre os genótipos avaliados, reflexo da variabilidade genotípica entre os acessos do banco de germoplasma.

Tabela 1. Resumo da análise de variância pelos parâmetros matiz (M), saturação (S) e brilho (B) de diferentes acessos de sorgo.

Fonte de Variação	Quadrado Médio			
	GL	M	S	B
Acessos de sorgo	19	1059.62*	2821.96*	1270.55*
Resíduos	226	11.56	30.35	18.53
Total	245			
CV (%)		11.53	18.58	10.39

* Significativos pelo teste F ao nível de 1% de significância, respectivamente.

Na comparação das médias, verificou-se que para a variável Matiz, os acessos formaram seis grupos heterogêneo entre si. Os valores variaram de 9,18° a 39,7° com uma média de 34,73° entre os acessos avaliados nesse trabalho. Foram verificados índices Matiz correlacionados a maiores teores de substâncias bioativas, como antioxidantes do tipo compostos fenólicos (López-Contreras et al., 2015).

Tabela 2. Médias dos valores do sistema de cores matiz (M), saturação (S) e brilho (B) de diferentes acessos de sorgo capturados por sistema de baixo custo.

Acessos	M		S		B	
166	39.71	a	9.14	h	56.06	a
1530	36.75	b	19.77	e	53.17	a
3990	36.47	b	8.75	h	48.71	b
1189	36.37	b	39.40	c	39.15	d
2449	36.30	b	22.55	e	44.83	c
7030	35.91	b	7.75	h	54.51	d
1811	35.82	b	40.35	c	41.40	d
567	35.73	b	17.75	f	52.41	a
1806	35.17	b	47.89	a	35.36	E
2413	35.00	b	31.52	d	41.13	D
2046	34.46	b	42.45	b	38.16	D
292	33.50	b	16.58	f	53.38	A
1712	30.33	c	14.00	g	42.33	d

4669	27.78	c	7.09	h	51.33	a
1756	20.10	d	12.78	g	35.68	e
140	19.46	d	43.17	b	39.37	d
197	18.69	d	46.06	a	37.46	e
1776	18.00	d	44.69	b	33.18	e
2244	13.36	e	47.97	a	16.89	g
3626	9.18	f	39.07	c	24.14	f
Média	34.73		27.04		41.26	

Observação: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, nas colunas, ao nível de 5% de significância pelo teste Scott-Knott ($p < 0.05$).

Os níveis de luminosidade (%) foram em média de 41,26%, apresentando valores para todos os acessos acima de 30%, com exceção de dois acessos, BAGs 2244 e 3626, que apresentaram valores de 16,89% e 24,14%, respectivamente. Por sua vez, os valores de saturação apresentaram uma amplitude de 40,88 pontos, variando de 7,09% para o genótipo BAG 4669 até 47,97% para o acesso BAG 2244. Esse acesso apresenta uma coloração avermelhada intensa e apresentou valor de matiz superior apenas ao BAG 3626. Ambos os genótipos se destacam e formam um grupo à parte conforme se verifica no dendrograma da Figura 1. A diversidade e o agrupamento entre os acessos foram verificados em sete grupos homogêneos entre si. Pela aplicação do método de Mojena observa-se um corte na altura de $\theta = 1,980673$.

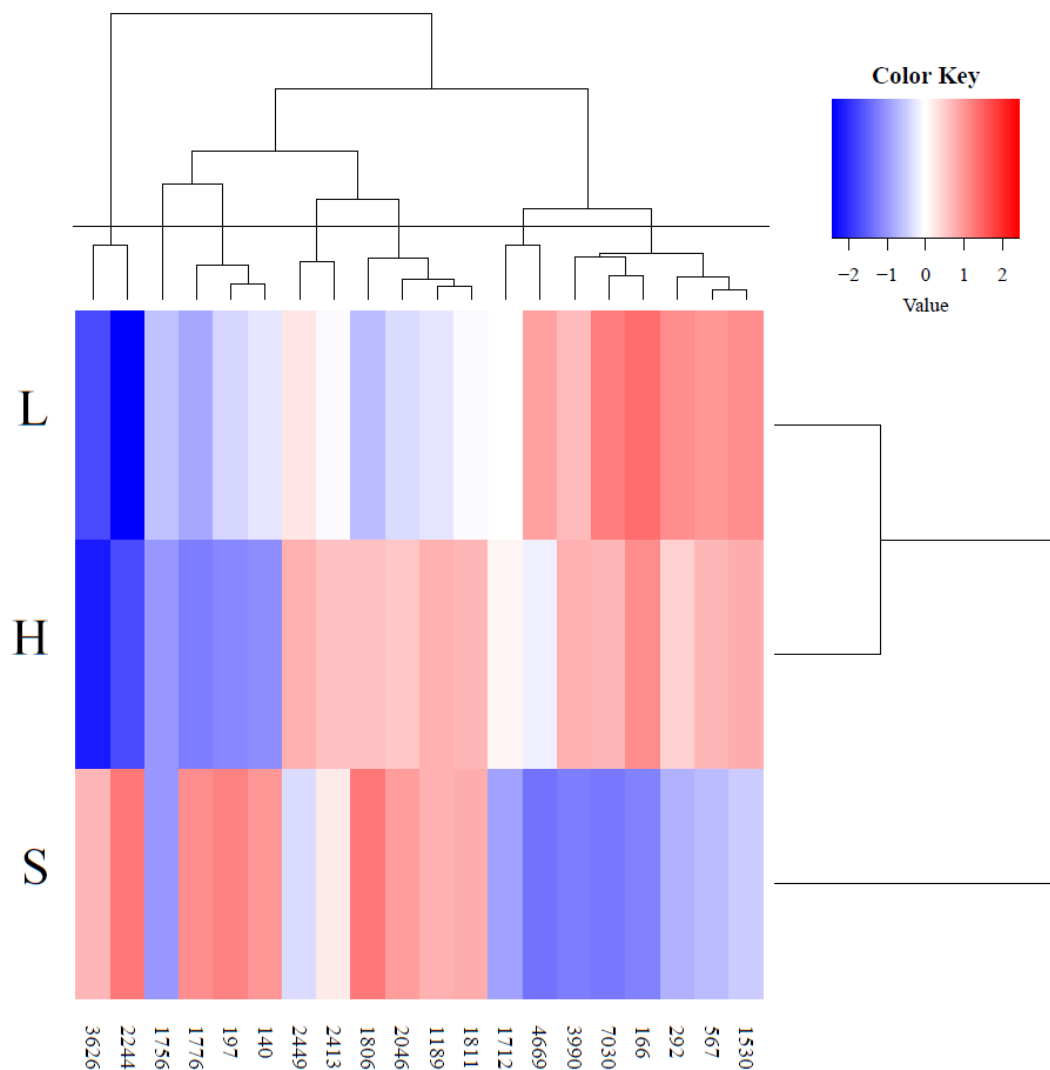


Figura 1. Análise de Dissimilaridade entre 20 acessos de sorgo do Banco de Germoplasma de Sorgo da Embrapa Milho e Sorgo por meio de imagens digitais no visível.

Conclusão

A metodologia foi adequada e representa uma promissora ferramenta e de baixo custo em condições ambientais variáveis, para caracterização de acessos de germoplasma de sorgo.

Referências

- ACOMPANHAMENTO da Safra Brasileira [de] Grãos, v. 7, safra 2019/20, julho 2020: décimo levantamento. Brasília, DF: Conab, 2020. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em: 10 ago. 2020.
- ALERCIA, A. **Key characterization and evaluation descriptors**: methodologies for the assessment of 22 crops. Rome: Bioversity International, 2011.
- BHERING, L. L. Rbio: a tool for biometric and statistical analysis using the R platform. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 17, n. 2, p. 187-190, 2017.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 2.366, de 5 de novembro de 1997. Regulamenta a Lei nº 9.456, de 25 de abril de 1997, que institui a Proteção de Cultivares, dispõe sobre o Serviço Nacional de Proteção de Cultivares - SNPC, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 6 nov. 1997. Seção 1. p. 25162-25185.
- CARAZA-HARTER, M. V.; ENDELMAN, J. B. Image-based phenotyping and genetic analysis of potato skin set and color. **Crop Science**, v. 60, n. 1, p. 202-210, 2019.
- COSTA, T. S.; SILVA, A. V. C. da; LÉDO, A. da S.; SANTOS, A. R. F. dos; SILVA JÚNIOR, J. F. da. Diversidade genética de acessos do banco de germoplasma de mangaba em Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 5, p. 499-508, 2011.
- KEHEL, Z.; SANCHEZ-GARCIA, M.; EL BAOUCHI, A.; ABERKANE, H.; TSIVELIKAS, A.; CHARLES, C.; AMRI, A. Predictive characterization for seed morphometric traits for genebank accessions using genomic selection. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 8, article 32, 2020.
- LI, L.; ZHANG, Q.; HUANG, D. A review of imaging techniques for plant phenotyping. **Sensors**, v. 14, n. 11, p. 20078-20111, 2014.
- LÓPEZ-CONTRERAS, J. J.; ZAVALA-GARCÍA, F.; URÍAS-ORONA, V.; MARTÍNEZ-ÁVILA, G. C. G.; ROJAS, R.; NIÑO-MEDINA, G. Chromatic, phenolic and antioxidant properties of *Sorghum bicolor* genotypes. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 43, n. 2, p. 366-370, 2015.
- MATHUR, S.; UMAKANTH, A. V.; TONAPI, V. A.; SHARMA, R.; SHARMA, M. K. Sweet sorghum as biofuel feedstock: recent advances and available resources. **Biotechnology for Biofuels**, v. 10, article 146, 2017.
- MUNDIA, C. W.; SECCHI, S.; AKAMANI, K.; WANG, G. A regional comparison of factors affecting global sorghum production: the case of North America, Asia and Africa's Sahel. **Sustainability**, v. 11, n. 7, 2135, 2019.
- NGUYEN, G. N.; MAHARJAN, P.; MAPHOSA, L.; VAKANY, J.; THODAY-KENNEDY, E.; KANT, S. A robust automated image-based phenotyping method for rapid vegetative screening of wheat germplasm for nitrogen use efficiency. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, article 1372, 2019.

RAHAMAN, M. M.; CHEN, D.; GILLANI, Z.; KLUKAS, C.; CHEN, M. Advanced phenotyping and phenotype data analysis for the study of plant growth and development. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, article 619, 2015.

VINUTHA, K. S.; ANIL KUMAR, G. S.; BLÜMMEL, M.; SRINIVASA RAO, P. Evaluation of yield and forage quality in main and ratoon crops of different sorghum lines. **Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales**, v. 5, n. 1, p. 40-49, 2017.

WHAN, A. P.; SMITH, A. B.; CAVANAGH, C. R.; RAL, J.-P. F.; SHAW, L. M.; HOWIT, C. A.; BISCHOF, L. GrainScan: a low cost, fast method for grain size and colour measurements. **Plant Methods**, v. 10, article 23, 2014.

XIONG, Y.; ZHANG, P.; WARNER, R. D.; FANG, Z. Sorghum grain: from genotype, nutrition, and phenolic profile to its health benefits and food applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 18, n. 6, p. 2025-2046, 2019.